

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.  
Vol. 15, 1977, pp. 499–501

## Jodbestimmung in Plasma und biologischen Flüssigkeiten im nmol/l-Bereich mittels Autoanalyzer

Von B. Glöbel

Aus dem Institut für Biophysik (Direktor: Prof. Dr. H. Muth) der Universität des Saarlandes Homburg (Saar)

(Eingegangen am 21. Februar/20. Mai 1977)

**Zusammenfassung:** Es wird eine automatische continuous-flow-Methode zur Bestimmung sehr geringer Konzentrationen von Jod in biologischen Flüssigkeiten angegeben. Sie hat eine Nachweisgrenze von 0,4 nmol/l Jodid und beruht auf dem analytischen Prinzip der *Sandell-Kolthoff*-Reaktion, wobei die Geschwindigkeit der Jodidkatalyse der Reduktion von  $Ce^{4+}$ -Ionen durch Arsenit in schwefelsaurer Lösung gemessen wird.

Folgende Anwendungsbeispiele werden beschrieben:

Jodid im Plasma	Gesamtjod im Trinkwasser
Gesamtjod im Plasma	Jodgehalt von Rattenfutter
Proteingebundenes Jod	Jodgehalt von pflanzlichen Nahrungsmitteln
Gesamtjod im Urin	Gesamtjod in Kuhmilch

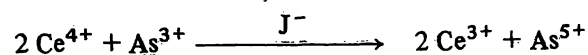
### *Determination of iodine in plasma and biological fluids in the range 2 nmol/l with the aid of an autoanalyser*

**Summary:** An automated continuous flow method is described for the determination of iodine in biological fluids with a detection limit of 0.4 nmol/l. Our method uses the kinetics of the *Sandell-Kolthoff*-Reaction in sulfuric acid for the determination of iodide. The following applications are described:

plasma inorganic iodine  
total plasma iodine  
protein bound iodine  
total iodine in urine, drinking water and milk  
total iodine in vegetables and laboratory diet for rats.

### Einführung

Das analytische Prinzip der *Sandell-Kolthoff*-Reaktion (1) beruht auf der Messung der Geschwindigkeit der jodidkatalysierten Reduktion von  $Ce^{4+}$  durch  $As^{3+}$  in schwefelsaurer Lösung.



Im klinisch chemischen Laboratorium wird diese Reaktion in continuous flow Geräten zur Bestimmung des proteingebundenen Jod verwendet und hat eine untere Nachweisgrenze von etwa 80 nmol/l. Die Jodidkonzentration im menschlichen Plasma hingegen liegt zwischen 0,8–4,0 nmol/l. Um derartig niedrige Konzentrationen an Jodid mit ausreichender Reproduzierbarkeit zu erfassen, war es notwendig, die Empfindlichkeit der automatischen Methode soweit zu steigern, daß mit ihr Konzentrationen bis hinab zu 0,4 nmol/l in beliebigen biologischen Flüssigkeiten bestimmt werden können. Da viele

organische Verbindungen die *Sandell-Kolthoff*-Reaktion beschleunigen oder hemmen, konnte auf die Veraschung nicht verzichtet werden. Der Einfluß von anorganischen Ionen außer Jodid ist in der Literatur ausreichend untersucht und muß bei jedem Meßproblem durch Zusatz steigender Mengen von Jodid zum Probenmaterial Berücksichtigung finden (1–9).

### Material und Methoden

Abtrennung und Bestimmung des anorganischen Jod im Plasma

Das gesamte Verfahren ist in drei Schritte unterteilt:

1. Abtrennung des Jodid von Bestandteilen des Plasmas, die ein Molekulargewicht größer als 1000 besitzen (Ultrafiltration).
2. Nasse, saure, kontinuierliche Veraschung des Ultrafiltrats.
3. Bestimmung der Jodidkonzentration durch Messung der Kinetik der *Sandell-Kolthoff*-Reaktion.

Zur Ultrafiltration des Plasmas mit 6 kPa wurde die Pellicon-Membran PSAC von Millipore verwendet.

Möglicherweise vorhandenes freies Thyroxin und Trijodthyronin, das normalerweise eine Konzentration von weniger als 0,3 nmol/l aufweist und durch die PSAC-Membran nur teilweise filtrierbar ist, kann bei der Bestimmung des Jodid vernachlässigt werden (9).

Die kontinuierliche Veraschung des Ultrafiltrats erfolgt in dem Technicon-Gerät PB/D 1 unter folgenden Bedingungen:

Temperatur: Zone 1 220 °C  
Zone 2 230 °C  
Umdrehungszahl: 3 U/min  
Chemikalien: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> p. a. 970 g/kg  
HNO<sub>3</sub> p. a. 650 g/kg  
HClO<sub>4</sub> p. a. 650 g/kg

Die Zusammensetzung des Veraschungsgemisches ist aus dem Fließschema zu entnehmen. Hierbei ist HClO<sub>4</sub> mit HNO<sub>3</sub> 80 + 20 gemischt.

Am Ausgang des Veraschers erhält man etwa 990 g/kg H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Nach Verdünnung der Säure mittels H<sub>2</sub>O auf 450 g/kg gelangt die Lösung in den analytischen Teil des Gerätes.

Die Kinetik der *Sandell-Kolthoff*-Reaktion ist bisher von zahlreichen Autoren (2–8) untersucht und zur Bestimmung von Jodid herangezogen worden. Dabei sind die optimalen Reaktionsbedingungen weitgehend festgelegt worden. Die Erfassungsgrenze einer kontinuierlich arbeitenden automatischen Anordnung hängt danach nur noch von der Empfindlichkeit und Stabilität des elektronischen Teils und der Gleichmäßigkeit des Reagenzflusses ab.

In Tabelle 1 sind die Bedingungen unserer Methode, die der Technicon-Methode zur Bestimmung von proteingebundenem Jod und die der Methode von Keller et al. (10) gegenübergestellt.

Interferierende anorganische Substanzen wie Cl<sup>-</sup>, F<sup>-</sup>, Br<sup>-</sup>, SCN<sup>-</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup> und als Modellschubstanzen für organische Stoffe Tyrosin und Ascorbinsäure üben bis auf Cl<sup>-</sup> keinen meßbaren Einfluß auf das Bestimmungsverfahren aus. Die eingesetzten Konzentrationen entsprachen etwa dem Zehnfachen dessen, was „normalerweise“ (11) maximal im Plasma erwartet werden kann.

#### Verwendete Reagenzien

Alle verwendeten Reagenzien, bis auf As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und NaJ, hatten den Reinheitsgrad p. a. und wurden von der Firma Merck, Darmstadt, bezogen. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> war doppelt sublimiert und NaJ vom Reinheitsgrad Suprapur, beide ebenfalls von Firma Merck.

Zur Herstellung der Reagenzienlösungen wurde entmineralisiertes Wasser mit einem Jodgehalt von weniger als 0,1 nmol/l verwendet.

Die Ce<sup>4+</sup>- und As<sup>3+</sup>-Lösungen haben wir in 0,5 mol/l H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> angesetzt, wobei die As<sup>3+</sup>-Lösung unter Erhitzen 4 Stunden mit einem Magnetrührer durchmischt wurde.

Abbildung 1 zeigt ein Fließschema der gesamten Anordnung.

Das mitgeteilte Verfahren ist unter Umgehung der Ultrafiltration geeignet, Gesamtjod im Trinkwasser, verdünntem Urin (1:50)

und Suspensionen von Nahrungsmitteln zu bestimmen. Auch das proteingebundene Jod kann nach Verdünnung des Plasmas und Entfernung des Jodid durch einen Ionenaustauscher direkt bestimmt werden. Suspensionen von pflanzlichen Nahrungsmitteln wurden durch Ultraschallzerkleinerung hergestellt. Dazu sind beliebige Laborquellen für Ultraschall verwendbar.

#### Ergebnisse

Bei 20-facher Bestimmung einer Einzelprobe erreichten wir mit  $\bar{x} \pm s = 0,438 \pm 0,032$  nmol/l einen Variationskoeffizienten von 7,3%.

In Tabelle 2 sind die in einigen Proben gemessenen Konzentrationen als Mittelwerte angegeben.

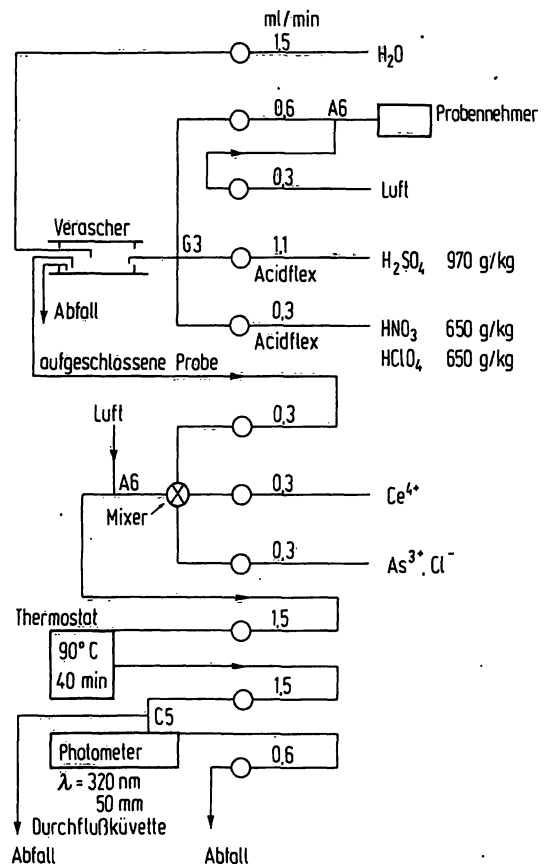


Abb. 1. Fließschema des continuous flow Autoanalysers

Tab. 1. Reaktionsbedingungen von drei Methoden zur Bestimmung des Jodid in Flüssigkeiten.

		proteingebundenes Jod	Keller et al.	eigene Methode
Veraschung:	Dauer [min]	3	—	10
	Gemisch	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HNO <sub>3</sub> , HClO <sub>4</sub>	—	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> , HNO <sub>3</sub> , HClO <sub>4</sub>
	Temperatur	50–280 °C	—	200–250 °C
Analytik:	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> [mol/l]	3,5	0,37	5
	Ce <sup>4+</sup> [mol/l]	0,002	0,0017	0,0033
	As <sup>3+</sup> [mol/l]	0,04	0,0065	0,033
	As/Ce	20	3,8	10
	NaCl [mol/l]	0,17	0,34	0,01
	t [°C]	55	35	85–95
	T [min]	30	35	40
Photometer:	nm	415	420	320
	Schichttiefe mm	15	15	50
Nachweisgrenze:	nmol/l	80,0	1,6	0,4

Tab. 2. Gemessene Mittelwerte und Bereiche bei einigen Probenmaterialien.

Probe	Anzahl	Mittelwert [nmol/l]	Bereich [nmol/l]
Trinkwasser	30	14	3–28
Plasmajodid	400	8	0,8–50
Plasma-Gesamtjod	20	630	236–1180
proteingebundenes Jod im Plasma	60	530	150–1200
Urinjod	150	610	200–1800
Jod in Kuhmilch	40	250	60–2500
Jod in Mineralwasser, Bier, Wein	50	69	10–150
Speichel, Mensch	10	567	230–950
Rattenfutter	5	394	230–630
Rattenfutter jodarm	5	236	79–780
Nahrungsmittel (pflanzlich)	30	62	8–8000

## Diskussion

Für proteingebundenes Jod im Plasma, Trinkwasser und Urin liegen die gemessenen Werte in dem in der Literatur angegebenen Bereich. Ein Vergleich der Jodidwerte im Plasma mit früheren Arbeiten ist nicht direkt möglich, da die bisher angegebenen Werte sehr unterschiedlich sind

## Literatur

- Sandell, E. B. & Kolthoff, I. M. (1973), *Microchim. Acta* 9–25.
- Acland, J. D. (1957), *Biochem. J.* 66, 177–188.
- Deman, J. (1964), *Microchim. Acta* 67–78.
- Dubravcic, M. (1955), *Analyst* 80, 295–300.
- Kontaxis, N. E. & Pickering, D. E. (1958), *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 18, 774–786.
- Lein, A. & Schwartz, N. (1951), *Anal. Chem.* 23, 1507–1510.
- Stolc, V. (1961), *Microchim. Acta* 710–720.
- Strickland, R. D. & Maloney, C.-M. (1957), *Anal. Chem.* 29, 1870–1873.
- Werner, S. C. & Ingbar, S. H. (1971), *The Thyroid*, Third Edition, Harper & Row, New York.
- Keller, H. E., Doenecke, D. & Leppla, W. (1968), *Technicon Symposia* 2, 371–376, Verlag Mediad Incorporated, White Plains, N. Y. 10601, U.S.A.
- Documenta Geigy (1960), *Wissenschaftliche Tabellen*, 6. Aufl., Geigy J. R., A. G., Basel (Hrsg.).
- Stelzer, M. & Mertz, D. P. (1974), *Therapiewoche*, 820–825.
- Mertz, D. P. & Stelzer, M. (1974), *Therapiewoche*, 2418–2424.
- Klein, E. (1954), *Biochem. Z.* 326, 9–13.
- Glöbel, B., Oberhausen, E. & Berberich, R. (1972), *Fortschr. Geb. Roentgenstr. Nuklearmed.*, Beiheft.
- Oberhausen, E., Glöbel, B. & Berberich, R. (1974), *Nuklearmedizin*, 156–158 (Pabst H. W., Hrsg.), F. K. Schattauer-Verlag, Stuttgart.
- Berberich, R., Glöbel, B. & Oberhausen, E. (1974), *Schilddrüse '73*, 190–196, (Schleusener, H. & Weinheimer, B., Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart.
- Berberich, R., Glöbel, B. & Oberhausen, E. (1974), *Comptes rendus du Colloque de Médecine Nucléaire de Langue Française* 6.–9. 6. 1974 Clermont-Ferrand (Frankreich) 4, 73–82, Verlag Bloc Santé, Clermont-Ferrand.
- Glöbel, B., Berberich, R. & Oberhausen, E. (1974), *Electromedica* 3, 81–84, (Siemens Elema, Hrsg.) Verlag Druckhaus Nürnberg.
- Berberich, R., Oberhausen, E., Glöbel, B., Debus, H. D. & Probst, H. (1974), *Electromedica* 4, 111–114, (Siemens Elema Hrsg.) Verlag Druckhaus Nürnberg.
- Glöbel, B., Berberich, R. & Oberhausen, E. (1974), *Nuc. Compact* 5, 64–67, (Graul, E. H. & Kuni, H., Hrsg.) GIT-Verlag, Darmstadt.
- Glöbel, B., Oberhausen, E. & Weinheimer, B. (1974), *Nuc. Compact* 2, 30–31, (Graul, E. H. & Kuni, H., Hrsg.) GIT-Verlag, Darmstadt.
- Mahlstedt, I., Schmidt, K., Glöbel, B. & Joseph, K. (1975), *Radioaktive Isotope in Klinik und Forschung* 11, 496–502, (Höfer, R., Hrsg.) Urban und Schwarzenberg, München.
- Mahlstedt, I., Schmidt, U., Joseph, K. & Wenzel, K. W. (1974), *Nuc. Compact* 5, 50–53, (Graul, E. H. & Kuni, H., Hrsg.) GIT-Verlag, Darmstadt.
- Glöbel, B. (1975), *Verhandlungsbericht der Schutzkommission beim Bundesminister des Innern*, 237–239, Tagung Erlangen 1975 (Der Bundesminister des Innern, Hrsg.).
- Berberich, R., Glöbel, B. & Gotthier, R., *Schilddrüse '75 – Homburg (Saar)*, (Schleusener, H. & Weinheimer, B., Hrsg.), G. Thieme Verlag, Stuttgart (im Druck).
- Mahlstedt, J., Joseph, K., Schmidt, U., Meinhold, H., Wenzel, K.-W. & Glöbel, B., *Schilddrüse '75 – Homburg (Saar)*, (Schleusener, H. & Weinheimer, B., Hrsg.) G. Thieme Verlag, Stuttgart (im Druck).
- Glöbel, B., Oberhausen, E. & Berberich, R. (1971), *Nuc. Compact* 6, 81–82 (Graul, E. H. & Kuni, H., Hrsg.) GIT-Verlag, Darmstadt.

Dr. B. Glöbel  
Institut für Biophysik  
D-6650 Homburg/Saar

